

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 1 日現在

機関番号：32621

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22750112

研究課題名（和文） マイクロ波を用いた環境低負荷型バイオマテリアルの創製

研究課題名（英文） Preparation of environmental biomaterials using microwave system

研究代表者

竹岡 裕子（TAKEOKA YUKO）

上智大学・理工学部・准教授

研究者番号：50338430

研究成果の概要（和文）：環境負荷が少ない条件で、簡便に人工骨材料を作製することを目的として、触媒に生体由来のリパーゼを用い、エネルギー源にマイクロ波を用いて、水酸アパタイトと生分解性高分子の複合材料を作製した。多孔質の水酸アパタイト中で生分解性高分子を合成することにより、二成分がより一体化した複合材料を得ることができ、マイクロ波の利用によって、短時間での合成が可能であった。また、生分解性高分子の種類により、複合材料の強度と、接触角を制御可能であることが分かった。

研究成果の概要（英文）：With the aim to fabricate artificial bone materials under environmentally mild conditions, we adopted lipase as catalysts and microwave system as an energy source for obtaining hybrid materials from hydroxyapatite and biodegradable polymers. We succeeded in polymerizing biodegradable polymers in porous HAp ceramics using microwave irradiation and obtain biodegradable polymer/HAp composites in short reaction times. By using various biodegradable polymers, mechanical properties and contact angles of the composites were controllable.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・高分子化学

キーワード：バイオマテリアル、生分解性高分子、マイクロ波、水酸アパタイト、複合材料

1. 研究開始当初の背景

近年、様々な生体組織代替材料が開発され、その応用範囲が広がっている。平均寿命の延びに伴い、機能が低下、喪失した骨や関節などを人工骨、人工関節で補う機会も急速に増加しつつある。一般に、骨代替生体材料には生体適合性、力学的特性、生体活性の3つの

特性が重要であると言われている。現在、骨欠損部の補填に利用されている材料には、水酸アパタイト（HAp）がある。化学式 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ であらわされる HAp は、多くの脊椎動物の硬組織における主要な無機成分である生体アパタイトに類似した物質である。HAp は生体適合性に優れた材料であり、

骨内に埋植すると、生きた骨組織と直接強く結合することが出来る。しかし、HApの機械的特性に着目すると、圧縮強度、曲げ強度は生体骨と比べて、数倍大きく、破壊靱性値は低く、ヤング率は骨よりはるかに大きいなど、生体骨と比べて強度がかなり異なる。生体骨と比べて、著しく強度が異なると、正常骨を破壊してしまうため、生体代替材料の強度としては、生体骨と同等の力学的強度が望ましい。

これらの欠点を改善するため、複合化による、様々な新しい材料開発の試みがなされている。骨は元々、生体高分子であるコラーゲンと HAp に類似した無機結晶から形成されており、典型的な有機・無機ナノコンポジットといえる。この構成を模倣すれば、生体骨と同等、あるいは、より有用な材料が作製できると思われる。

このような観点から、HApに柔軟な成分である高分子を複合化することにより、より生体骨に近い強度を有する材料を得る研究が盛んに行われている。これらの多くは、あらかじめ金属触媒等を用いて合成した高分子と HAp 粒子を物理的に混合あるいは混練する手法で得られている。生体骨はナノスケールで有機 - 無機成分が複合化しているのに対し、物理的な混合ではマクロレベルでの複合化となり、両成分の混和が不均一である。また、残存金属触媒の影響は長期的にみると、生体への応用の際に、無視できない問題として挙げられていた。

2. 研究の目的

これらの問題点を解決するため、本研究では、HAp 多孔体を用いて、その多孔内で In-situ 重合により高分子を合成することにより、優れた力学的強度と生体適合性を有するバイオマテリアルを作製することを目的とした。この方法を、用いることにより得られた複合体中では、ナノレベルで有機・無機成分が複合化するため、ひずみが小さいバイオマテリアルとなることが期待される。さらに、金属触媒の代わりに、酵素触媒を用いることにより、安全性の高い材料を得ることができる。さらに、従来の加熱法に比べて、迅速かつ高収率での重合が期待されるマイクロ波の利用により、種々の環境低負荷型のバイオマテリアルを作製することも目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、多孔性水酸アパタイト (HAp) 中で、生分解性高分子を酵素触媒重合することによって、HAp/生分解性高分子複合体を作製し、より生体骨に近い強度を有する材料を

得ることを第一の目的とし、研究を行った。各複合体の生分解性や生体適合性を調べ、材料適性を調べることを第二の目的とした。特に、導入する高分子としては、手術用縫合糸等として既に利用されており、生体適合性が高いことが明らかとなっているポリ乳酸、ポリラクトン、及びそれらの共重合体等の生分解性高分子を用いた。上記ポリマー合成には、有機金属触媒の利用が定法であるが、これらは体内に導入された際に、毒性を示す可能性があるため、リパーゼ等の生体触媒を用い、さらに、この作製法にマイクロ波を活用することにより、HAp/生分解性高分子複合体を迅速に作製した。

発展研究として、HApの気孔径を変化させたセラミックスを用いた複合体の作製も行った。具体的には、下記のように研究をおこなった。

- (1) ポアサイズの異なる多孔性 HAp の作製
- (2) 多孔性 HAp への生分解性高分子の導入
- (3) HAp/生分解性高分子複合体の力学的強度の評価と生分解性評価

4. 研究成果

(1) ポアサイズの異なる多孔性 HAp の作製
均一沈殿法により作製した繊維状 HAp を 30 MPa で一軸加圧成形し、1,200 °C で 5 時間焼成することによりマイクロポアを有する p-HAp (気孔率 38-42%) を作製した。また、焼成時にアニオン交換樹脂 (IER) (AG[®]1-4X; 粒径 75-150 μm) を混合し、マクロポアを有する mp-HAp (気孔率 68-72%) を作製した。SEM 観察の結果、p-HAp には 1 μm 程度の気孔、mp-HAp にはアニオン交換樹脂の焼失による 100 μm 程度の気孔の形成が確認された。図 1 に水銀ポロシメーターより求めた各 HAp の細孔分布測定の結果を示す。p-HAp は約 0.79 μm のマイクロポア、mp-HAp は約 75 μm と 1.1 μm のマクロポアとマイクロポアを有していた。これより、粒径約 100 μm の IER を混合焼成させて作製した mp-HAp はマクロポアとマイクロポア

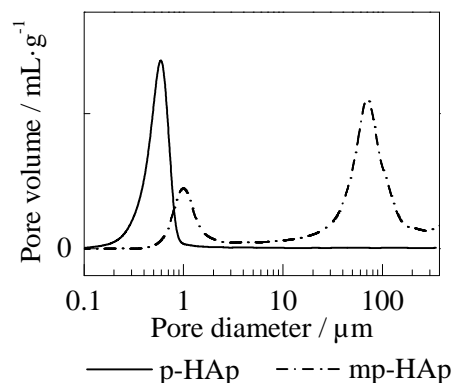
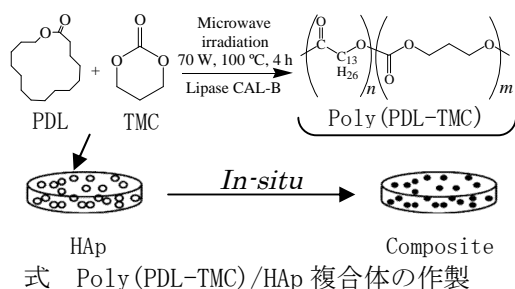


図 1 p-HAp と mp-HAp の細孔分布図 (水銀ポロシメーターで測定)

を有し、代替骨材料に適した形態を有している事が分かった。また、各 HAp の SBF 浸漬試験より、浸漬日数の増加に伴って気孔を充填するように新たな HAp の形成が確認されたことから、骨接続能を有する事が示唆された。

(2) 多孔性 HAp への生分解性高分子の導入式のように、モノマー総重量に対して 5 wt% の lipase CAL-B を p-HAp 及び mp-HAp 気孔内に導入した後、 ω -pentadecalactone (PDL) を各 HAp 気孔内へ導入し、出力 70 W のマイクロ波照射下、100 °C、4 時間加熱することにより、poly (PDL)/p-HAp と poly (PDL)/mp-HAp をそれぞれ作製した。同様に PDL と trimethylenecarbonate (TMC) のモル比を変化させて、poly (PDL-TMC)/p-HAp と poly (PDL-TMC)/mp-HAp を作製した。

各複合体の ¹H NMR と ATR-FT-IR 測定より、気孔内におけるポリマーの合成を確認した。表に poly (PDL-TMC)/p-HAp 複合体と poly (PDL-TMC)/mp-HAp 複合体における共重合体の組成比、複合体中のポリマー含有率、質量平均モル質量 (M_w)、及び、表面接触角の結果を示す。TG-DTA 測定での 500 °C における残存重量から求めたポリマー導入量は、mp-HAp 複合体では p-HAp 複合体と比較して約 2 倍であった。これは、細孔分布測定より得られた、p-HAp と mp-HAp の気孔率の差と一致した。また、poly (PDL) の分子量は mp-HAp 気孔内と比較して p-HAp 気孔内で得られたものの方が高くなった。¹H NMR 測定より TMC シーケンスと PDL シーケンスに起因するピークから共重合体中の各組成比を算出したところ、触媒として lipase CAL-B を用いた場合、PDL



の重合能は TMC と比較して高いことが分かった。ポリマーの結晶化度は、p-HAp 気孔内と比較して mp-HAp 気孔内で得られたものの方が一様に高い値を示した。材料表面接触角は、いずれの HAp 複合体においても TMC を PDL と共重合化することで低下し、mp-HAp 系の表面接触角は一様に p-HAp 系よりも低く親水性であった。これより TMC を共重合化することで、材料表面接触角を制御でき、細胞接着に適した表面を得られることが分かった。

各複合体の三点曲げ強度試験の結果 mp-HAp 系は p-HAp 系と比較して、曲げ強度と弾性率が低いことが分かった。また、非晶性

表 種々複合体の特性評価

	PDL:TMC	ポリマー含有率 / wt%	M_w /g mol ⁻¹	接触角 / °
Poly (PDL-TMC) /p-HAp	-	14	63,000	87
	11:1	15	14,000	66
	4:1	17	12,000	51
	0.64:1	15	10,000	38
Poly (PDL-TMC) /mp-HAp	-	32	47,000	116
	13:1	30	12,000	73
	3.1:1	34	13,000	58
	1.3:1	29	10,000	44

の TMC 比の増加に伴い、いずれの複合体においても曲げ強度と弾性率が低下した。これは、共重合体のランダム性が増加し、poly (PDL) のシーケンスが poly (TMC) によって阻害されたためと考えられる。また、mp-HAp 系は p-HAp 系と比較して、ポリマー導入量が高いことから、ポリマーの性質が複合体の特性に大きく影響を与えることが示唆された。

以上より、本研究では、poly (PDL-TMC) を骨芽細胞の侵入可能な mp-HAp と複合化する事で、機械的特性は低下するが、細胞接着に適した表面に改質できる事が示唆された。さらに、この成果を発展させて、HAp とともに、生体吸収性の異なる β -TCP を含む二相性セラミックス (BCP) の多孔体を合成し、その気孔中で生分解性高分子を合成し、種々の複合体を継続的に作製している。その結果、BCP の利用により、lipase 触媒を使用せずに、生分解性高分子が合成することが明らかとなり、より簡便に環境低負荷な人工骨材料が得られることが分かった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① T. Yoshimi, N. Sugiyama, Y. Takeoka, M. Rikukawa, M. Aizawa, Changes of material properties of inorganic/organic hybrids fabricated by infiltration of poly (L-lactic acid) into open pores of porous hydroxyapatite ceramics in a simulated body fluid, J. Australian Ceramic Society, 査読有, Vol. 47, No. 1, pp. 18-22 (2011).
<http://www.austceram.com/journal.htm>

[学会発表] (計 19 件)

- ① S. Kadota, M. Yoshizawa-Fujita, Y. Takeoka, M. Aizawa, M. Rikukawa,

- Fabrication of biodegradable polymer/HAp composites by microwave irradiation, 2011 MRS Fall Meeting & Exhibit, 2011年11月28日, ボストン、USA
- ② 吉田和世・藤田正博・竹岡裕子・陸川政弘, エレクトロスピンニング法による PLLA-b-PCLファイバーの作製(II) -溶媒種の効果-, 第60回高分子学会討論会, 2011年9月30日, 岡山大学 津島キャンパス
- ③ 門田紗央莉・藤田正博・竹岡裕子・陸川政弘・相澤守, マイクロ波を利用した生分解性高分子/HAp複合体の作製, 第60回高分子学会討論会, 2011年9月29日, 岡山大学 津島キャンパス
- ④ 門田紗央莉・藤田正博・竹岡裕子・陸川政弘・相澤守, マイクロ波を利用したポリラクトン/HAp複合体の作製(III) -HAp気孔サイズの影響-, 第60回高分子学会年次大会, 2011年5月25日, 大阪国際会議場
- ⑤ 吉田和世・藤田正博・竹岡裕子・陸川政弘, エレクトロスピンニング法による PLLA-b-PCLファイバーの作製(I) -高次構造とファイバー形状との関係-, 第60回高分子学会年次大会, 2011年5月26日, 大阪国際会議場
- ⑥ 三浦麻理・藤田正博・竹岡裕子・松浦知和・陸川政弘, 生体適合性を有する多孔質膜の合成と界面特性の評価(III) -生体適合性に及ぼす表面構造の影響-, 第60回高分子学会年次大会, 2011年5月25日, 大阪国際会議場
- ⑦ 渡部遼・藤田正博・竹岡裕子・陸川政弘, 生分解性を有するブロックコポリマーの合成(II) -ブロック成分の多様化と相分離挙動-, 第60回高分子学会年次大会, 2011年5月25日, 大阪国際会議場
- ⑧ K. Kikuchi, M. Yoshizawa-Fujita, Y. Takeoka, M. Rikukawa, Preparation and characterization of PLLA/nano-particle-HAp composite fibers, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies Sponsors 2010, 2010年12月19日, Hawaiian Convention Center, Honolulu
- ⑨ S. Kadota, M. Yoshizawa-Fujita, Y. Takeoka, M. Rikukawa, Fabrication of polylactone/HAp composites by microwave irradiation, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies Sponsors 2010, 2010年12月19日, Hawaiian Convention Center, Honolulu
- ⑩ K. Kikuchi, M. Yoshizawa-Fujita, Y. Takeoka, M. Rikukawa, Preparation and characterization of PLLA/nano-particle-HAp composite fibers, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies Sponsors 2010, 2010年12月19日, Hawaiian Convention Center, Honolulu
- ⑪ 三浦麻理、藤田正博、竹岡裕子、陸川政弘, 高次構造を有する生分解性高分子の合成と界面特性(II) -構造変化による表面特性の変化-, 第59回高分子討論会, 2010年9月17日, 北海道大学
- ⑫ 門田紗央莉、藤田正博、竹岡裕子、陸川政弘, マイクロ波を利用したポリラクトン/HAp複合体の作製(II) -機械的特性の評価-, 第59回高分子討論会, 2010年9月15日, 北海道大学
- ⑬ 杉山奈未、藤田正博、竹岡裕子、陸川政弘, ポリ乳酸/二相性リン酸カルシウム複合材料の作製と生体適合性評価(III)-分解性挙動の解析-, 第59回高分子討論会, 2010年9月16日, 北海道大学
- ⑭ 山田淳、藤田正博、竹岡裕子、陸川政弘, マイクロ波を利用した PLLA-PGA 共重合体と HAp との複合化(III) -機械的特性の評価-, 第59回高分子年会, 2010年5月27日, パシフィコ横浜
- ⑮ 菊池健太、藤田正博、竹岡裕子、陸川政弘, PLLA/ナノ粒子状 HAp 複合ファイバーの作製と評価, 第59回高分子年会, 2010年5月27日, パシフィコ横浜
- ⑯ 渡部遼、藤田正博、竹岡裕子、陸川政弘, 生分解性を有するブロックポリマーの合成(I) -分子量制御-, 第59回高分子年会, 2010年5月27日, パシフィコ横浜
- ⑰ 杉山奈未、藤田正博、竹岡裕子、陸川政弘, ポリ乳酸/二相性リン酸カルシウム複合材料の作製と生体適合性評価(II)-力学的特性の制御-, 第59回高分子年会, 2010年5月28日, パシフィコ横浜
- ⑱ 三浦麻理、藤田正博、竹岡裕子、陸川政弘, 高次構造を有する生分解性高分子の合成と界面特性, 第59回高分子年会, 2010年5月27日, パシフィコ横浜
- ⑲ 門田紗央莉、藤田正博、竹岡裕子、陸川政弘, マイクロ波を利用したポリラクトン/HAp複合体の作製(I), 第59回高分子年会, 2010年5月27日, パシフィコ横浜

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹岡 裕子 (TAKEOKA YUKO)
上智大学・理工学部・准教授
研究者番号：50338430

(2) 研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし